维普资讯 http://www.cqvip.com

动物学研究 2004, Jun. 25 (3): 242-248　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research

斜带石斑鱼生长激素/催乳素家族基因cDNAs的分子克隆及其进化意义

贾海波，周　莉，石耀华，桂建芳*
（中国科学院水生生物研究所 淡水生态与生物技术国家重点实验室，湖北 武汉　430072）

摘要：从斜带石斑鱼垂体提取总 RNA，再取其 50 ng 合成 SMART cDNA。从所构建的垂体 SMART cDNA 质粒文库中筛选到生长激素/催乳素基因家族的 2 个成员的全长 cDNA 片段：生长激素（GH）基因全长为 938 bp，编码 204 个氨基酸；催乳素基因（PRL）全长为 1 429 bp，编码 212 个氨基酸。采用计算机软件 Mega 2 和 CLUSTAL W1.64 b 对 9 种鱼的生长激素/催乳素基因家族的 3 个成员（GH、PRL 和生长催乳素 SL）的氨基酸序列进行系统分析，构建 NJ 分支系统树，对于序列中的插入/缺失位点则采用 Pairaise Deletion，1 000 次自展（Bootstrap）分析计算各节点支持率。根据 3 个基因的氨基酸序列构建的系统树表明，石斑鱼与金头鲷、金鲈和牙鲆聚成一类，虹鳟与大马哈鱼聚成一类，鲫鱼与鲶鱼聚成一类，鳗鲡成另外一类。根据石斑鱼全长 cDNA 推断的氨基酸序列比较表明，SL 相对 GH 和 PRL 有较高的保守性。石斑鱼的 GH、PRL 和 SL 的氨基酸同源性在 24%~31%，但其 C-端的氨基酸同源性较高，尤其是 C-端的 3 个 Cys 是严格保守的。其中 SL 与 GH 的同源性（30.8%）高于与 PRL 的同源性（25.6%），GH 和 PRL 的同源性最低（24.1%）。

关键词：斜带石斑鱼；垂体；SMART cDNA；生长激素/催乳素基因；生长激素；催乳素
中图分类号：Q959.4　**文献标识码**：A　**文章编号**：0254-5853(2004)03-0242-07

Molecular Cloning and Evolutionary Implications of Growth Hormone/Prolactin Family Gene cDNAs in Grouper *Epinephelus coioides*

JIA Hai-bo, ZHOU Li, SHI Yao-hua, GUI Jian-fang*
(*State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Wuhan Center for Developmental Biology, Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan　430072, China*)

Abstract: Total RNA was isolated from pituitary of grouper (*Epinephelus coioides*), and SMART cDNA was synthesized from 50 ng RNA. Two genes in the growth hormone/prolactin family were cloned from SMART cDNAs plasmid library. The growth hormone (GH) cDNA contains 938 bp and encodes 204 amino acids (aa). The prolactin (PRL) cDNA contains 1 429 bp and encodes 212 aa. The deduced aa sequences of grouper GH, PRL and SL were compared with those of other eight species. Average genetic distances and a dendrogram showing the hierarchical structure of affinity among different nine fishes were implemented in Mega 2 and CLUSTAL W1.64b. Branch and bound strap analysis (1000 replicates) were performed and the degree of support for particular nodes were produced. The three phylogenetic trees drawn from the whole aa sequence of GH, PRL and SL were almost identical, *Epinephelus coioides*, *Perca flavescens*, *Sparus aurata* and *Paralichthys olivaceus* were clustered into one group, *Oncorhynchus keta* and *Oncorhynchus mykiss* were clustered into one group, *Carassius auratus* and *Ictalurus punctatus* were clustered into one group, while *Anguilla japonica* alone was clustered into another group. Alignment of the deduced aa sequence and the phylogenetic tree based on GH/PRL/SL showed the same clustering as the present hierarchy of fish and a higher conservation of SL than GH and PRL among various fish species is suggested in this text. Although there is only 24% - 31% identity between the three hormones overall, the C-terminal region shows a higher identity. Grouper SL appears to be more closely related to GH

收稿日期：2003-10-24；接受日期：2004-01-16
基金项目：863 计划项目（2003AA603410，2001AA2220771）；国家自然科学基金资助项目（30130240）；中国科学院院创新方向资助项目（KXCX2-SW-303）
* 通讯作者（Corresponding author），E-mail：jfgui@ihb.ac.cn，Fax：+86-27-87875132

维普资讯 http://www.cqvip.com

(30.8%) than to PRL (25.6%), which is slightly more than the identity of GH to PRL (24.1%).

Key words: *Epinephelus coioides*; Pituitary; SMART cDNA; GH/PRL family; Growth hormone; Prolactin

生长激素（growth hormone, GH）、催乳素（prolactin, PRL）及生长催乳素（somatolactin, SL）基因具有相似的结构及交叉功能，被归为同一个多肽激素家族，并认为由同一个基因进化而来（Chen et al, 1994）。GH 是由脑垂体前叶细胞合成分泌的一种单链多肽，通过刺激胰岛素样生长因子的生成来促进鱼体生长，是调控鱼类生长的重要内分泌因子。PRL 是脊椎动物垂体分泌的单链多肽类激素，具有多种生理功能。SL 是由鱼类脑垂体中部细胞产生的一种单链多肽激素，也具有多种生理功能。但其生理功能大多数是推测性的。

斜带石斑鱼（grouper, *Epinephelus coioides*）为鮨科（Serranidae）石斑鱼属（*Epinephelus*）的海珊瑚礁鱼类。由于生长快、食物转化迅速以及市场销售价格高，因而潜力巨大（Boonyaratpalin, 1997）；同时人工繁殖与育苗技术难度也最大（Yao et al, 2003）。为了揭示石斑鱼生长和生殖的分子机制，促进人工繁殖与育苗技术的发展，我们构建了斜带石斑鱼垂体的 SMART cDNA 质粒文库。在前期工作中，我们对 SL 基因其及表达模式做了初步分析（Jia et al, 2004）。在此基础上，我们比较分析了生长激素/催乳素基因家族的另外 2 个成员（GH 和 PRL）的序列特征，并对 9 种不同鱼类的生长激素/催乳素基因家族 3 个成员（GH、PRL 和 SL）氨基酸序列进行了系统分析。

1　材料与方法

1.1　RNA 的提取

取约 500 g 斜带石斑鱼 1 尾，麻醉放血，开颅取出垂体。垂体总 RNA 用 SV Total RNA Isolation System（Promega）提取，具体步骤参照操作手册。将抽提的 RNA 于真空冻干机中超低温冻干后，溶解于 20～30 μL 水中，取 0.5 μL 电泳检测其浓度和质量。

1.2　SMART cDNA 合成

斜带石斑鱼垂体的 SMART（switching mechanism at 5′ end of RNA transcript）cDNA 的合成根据 Xie et al（2001）按 SMART cDNA Library Construction Kit（Clontech）操作手册并加以改进的方法进行。具体操作如下：合成所用的 3 个引物序列分别为：① CDS 引物（10 μmol/L），5′-AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACT$_{(30)}$N$_{-1}$N-3′；② Smart Ⅱ 寡核苷酸（10 μmol/L），5′-AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACGCGGG-3′；③PCR引物（10 μmol/L），5′-AAGCAG TGGTAACAACGCAGAGT-3′。取垂体总 RNA 50 ng，按文库构建方法合成第一链 cDNA：加入 CDS 引物和 Smart Ⅱ 寡核苷酸各 1 μL，72 ℃保温 2 min 后，冰上速冷 2 min；然后在终体积为 10 μL 的反应体系中，加入 5 × 第一链反应缓冲液（250 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3; 375 mmol/L KCl; 30 mmol/L $MgCl_2$）2 μL、DTT（20 mmol/L）1 μL、dNTP（10 mmol/L）1 μL 和 PowerScript 逆转录酶 1 μL，42 ℃保温 1 h 以合成第一链 cDNA。取 2 μL 第一链 cDNA 加入 dNTP 2 μL、PCR 引物 4 μL 和 2 μL 50 × Advantage 2 cDNA Polymerase Mix，于 100 μL 反应体系中进行如下 PCR 循环：95 ℃预变性 1 min 后，以 95 ℃变性 5 s、65 ℃复性 5 s、68 ℃延伸 6 min 反应 13 个循环，72 ℃延伸 10 min。反应结束后，取 5 μL 电泳检测。此 PCR 产物用于构建质粒文库。

1.3　SMART cDNA 质粒文库的筛选

将石斑鱼脑垂体 SMART cDNA 连接到 pGEM-T 载体（Promega）中，取 5 μL 连接产物转化 DH5α 感受态细胞，在 X-gal/IPTG 琼脂平板上挑取白色菌落进行测序分析，并在 GenBank 中进行同源搜索，分别获得与 GH、PRL 和 SL 基因有较高同源性的多个克隆。

1.4　数据分析

将斜带石斑鱼的生长激素、催乳素及生长催乳素的氨基酸序列与 GenBank 中的虹鳟、鳗鲡、鲫鱼、金头鲷、金鲈、大马哈鱼、牙鲆和鲶鱼（表 1）作比较，同时采用计算机软件 Mega 2 和 CLUSTAL W1.64 b 对 9 种鱼的生长激素/催乳素基因家族成员的氨基酸序列进行系统分析，构建 NJ 分支系统树。对于序列中的插入/缺失位点则采用 Pairwise Deletion，1 000 次自展（Bootstrap）分析计算各节点支持率。

2　结果与分析

2.1　石斑鱼垂体 SMART cDNA 质粒文库的构建

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 9种鱼的生长激素、催乳素和生长催乳素的基因登录号

Table 1 Accession number of GenBank of GH, PRL, and SL of eight kinds of fish

种名 Species	基因名称 Gene	登录号 Accession number	参考文献 Reference
斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides*	生长激素	AY513647	本文
	催乳素	AY513648	本文
	生长催乳素	AY129310	Jia et al, 2004
金鲈 *Perca flavescens*	生长激素	AY007303	Unpublished
	催乳素	AY332491	Unpublished
	生长催乳素	AY332490	Unpublished
金头鲷 *Sparus aurata*	生长激素	AF195646	Almuly et al, 2000
	催乳素	AF060541	Unpublished
	生长催乳素	L49205	Astola et al, 1996
牙鲆 *Paralichthys olivaceus*	生长激素	X15055	Brockley et al, 1989
	催乳素	AF047616	Unpublished
	生长催乳素	M33695	Ono et al, 1990
大马哈鱼 *Oncorhynchus keta*	生长激素	K03050	Sekine et al, 1985
	催乳素	D00249	Kuwana et al, 1988
	生长催乳素	D10640	Takayama et al, 1991
虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*	生长激素	M14962	Agellon & Chen, 1986
	催乳素	M24738	Mercier et al, 1989
	生长催乳素	D10638	Takayama et al, 1991
鲫鱼 *Carassius auratus*	生长激素	X51969	Chiou et al, 1990
	催乳素	X52881	Chen et al, 1991
	生长催乳素	U72940	Cheng et al, 1997
鲶鱼 *Ictalurus punctatus*	生长激素	AF267989	Tang et al, 1993
	催乳素	AF267990	Tang et al, 1993
	生长催乳素	AF267991	Unpublished
鳗鲡 *Anguilla japonica*	生长激素	M24066	Saito et al, 1988
	催乳素	AY158009	Unpublished
	生长催乳素	U63884	May et al, 1997

石斑鱼垂体的总RNA的琼脂糖凝胶电泳检测显示：28*S* 和18*S* rRNA条带清晰，前者的浓度是后者的2倍以上，表明RNA未降解（图1a）。用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测扩增合成的SMART cDNA结果显示：ds cDNA的弥散带集中于0.1～4 kb，并具有富集带（图1b）。

2.2 2种激素基因cDNA全长序列及其氨基酸同源性分析

2.2.1 生长激素基因 斜带石斑鱼GH cDNA全长序列及由此推断的氨基酸序列见图2。cDNA全长938 bp，编码204个氨基酸。其中，5′端非编码区长59 bp；3′端非编码区包含有典型的加尾信号AATAAA，长为267 bp。通过Signal P程序对GH存在信号肽的可能性分析发现，N－端的18个氨基酸肽段为信号肽，信号肽酶的可能切割位点位于第18和19位氨基酸之间。斜带石斑鱼与虹鳟、鳗鲡、鲫鱼、金头鲷、金鲈、大马哈鱼、牙鲆、鲶鱼的GH基因遗传相似性在41%～96%；与金鲈的遗传

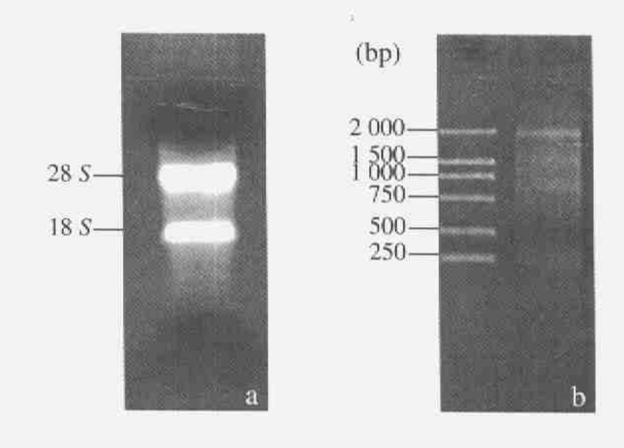


图1 斜带石斑鱼垂体RNA抽提（a）和SMART cDNA合成（b）的电泳图谱

Fig.1 Total RNA isolation (a) and SMART cDNA synthesis (b) electrophoresis pattern of grouper (*Epinephelus coioides*) pituitary

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
1                          ACCTGATCCACCAGAGCCGGACCTGATCCCAGACCACCC
40   ATGGACCGAGTCGTCCTCCTGCTGTCAGTAGTGTCTCTGGGTGTTTCCTCTCAGCCAATC
      M  D  R  V  V  L  L  L  S  V  V  S  L  G  V  S  S  Q  P  I
100  ACAGACGGCCAGCGTCTGTTCTCCATCGCCGTCAGCAGAGTTCAACATCTCCACCTGCTT
      T  D  G  Q  R  L  F  S  I  A  V  S  R  V  Q  H  L  H  L  L
160  GCTCAGAGACTCTTCTCCGACTTTGAGAGCACTCTGCAGACGGAGGAGCAGCGACAGCTC
      A  Q  R  L  F  S  D  F  E  S  T  L  Q  T  E  E  Q  R  Q  L
220  AACAAGATCTTCCTGCAGGACTTCTGTAACTCTGATTACATCATCAGCCCCATCGACAAG
      N  K  I  F  L  Q  D  F  C  N  S  D  Y  I  I  S  P  I  D  K
280  CACGAGACGCAGCGCAGCTCCGTGTTGAAGCTGTTGTCGATCTCCTATCGGTTGGTGGAG
      H  E  T  Q  R  S  S  V  L  K  L  L  S  I  S  Y  R  L  V  E
340  TCCTGGGAGTTCCCCAGTCGGTCCCTGTCCGGAGGTTCTGCTCCCAGAAACCAGATTTCT
      S  W  E  F  P  S  R  S  L  S  G  G  S  A  P  R  N  Q  I  S
400  CCCAAACTGTCTGAATTGAAGACCGGGATCCTGCTGCTGATCAGGGCCAATCAGGACGGA
      P  K  L  S  E  L  K  T  G  I  L  L  L  I  R  A  N  Q  D  G
460  GCGGAGCTCTTCCCTGACAGCTCCGCCCTCCAGCTGGCTCCTTATGGGAACTATTATCAG
      A  E  L  F  P  D  S  S  A  L  Q  L  A  P  Y  G  N  Y  Y  Q
520  AGTCTGGGCGCCGACGAGTCACTGCGACGAACGTACGAACTGCTGGCTTGTTTCAAGAAA
      S  L  G  A  D  E  S  L  R  R  T  Y  E  L  L  A  C  F  K  K
580  GACATGCACAAGGTGGAGACCTACCTGACGGTGGCTAAATGTCGACTCTCTCCTGAGGCC
      D  M  H  K  V  E  T  Y  L  T  V  A  K  C  R  L  S  P  E  A
640  AACTGTACCCTGTAGTCCCGCCTCTCCAGTATGAAGACACGCTCCCATGTGGATGATGTA
      N  C  T  L
700  ATGCTGTGTGTTCTGTAGTCCCGCCCACATGTTTTCTGACTCTGCTAATTAGCATTAGCA
760  TTTGTGTTAGCCACAGTGTTAGCCTGTGTTCAGTTGTTTGTTGGAGCAGGTGTTATTATG
820  ATGACAGCCATCAACAGGAGGTGATGTCATACTGTCACCATGTGTAATAAAGTGTGTGCT
880  GTGTTGCATTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

图 2　斜带石斑鱼生长激素基因的 cDNA 序列及其推导的开放阅读框的 204 个氨基酸序列

Fig.2　Nucleotide sequence of grouper (*Epinephelus coioides*) GH and the predicted open reading frame contains 204 amino acids as shown under the nucleotide sequence

距离最小（约 0.050）；而与鳗鲡的遗传距离最大（0.561）。

2.2.2　催乳素基因　PRL cDNA 全长序列及由此推断的氨基酸序列见图 3。cDNA 全长为 1 429 bp，编码含有 212 个氨基酸的蛋白。5′端非编码区长 39 bp；3′端非编码区长 751 bp，并具有脊椎动物典型的加尾信号 AATAAA，含有 28 bp 的 polyA 尾巴。PRL N－端的 24 个氨基酸肽段为信号肽，信号肽酶的可能切割位点位于第 24 和 25 位氨基酸之间。斜带石斑鱼的 PRL 基因具有硬骨鱼所特有的 4 个半胱氨酸，而非四足动物所特有的 6 个半胱氨酸（Kawauchi & Yasuda，1988）。斜带石斑鱼与虹鳟、鳗鲡、鲫鱼、金头鲷、金鲈、大马哈鱼、牙鲆、鲶鱼的 PRL 基因的同源性较高，遗传相似性为 55%～97%。同 GH 分析结果类似，与金鲈的遗传距离最小(约0.024)；与鳗鲡的遗传距离最大(0.561)。

而斜带石斑鱼的生长激素/催乳素基因家族中的 SL 基因（Jia et al，2004）与虹鳟、鳗鲡、鲫鱼、金头鲷、金鲈、大马哈鱼、牙鲆、鲶鱼的遗传相似性为 43%～100%。同 GH 与 PRL 的分析结果一致，与金鲈的遗传距离最小（0.067），与鳗鲡的遗传距离最大（0.578）。

2.3　9 种鱼生长激素/催乳素基因家族的序列比较

通过对斜带石斑鱼与虹鳟、鳗鲡、鲫鱼、金头鲷、金鲈、大马哈鱼、牙鲆、鲶鱼的 GH、PRL 及 SL 的氨基酸序列的进行比较，我们发现 GH 的 C－端的序列相对较保守，几乎均有 6 个亮氨酸和 2 个半胱氨酸。SL 有 6 个保守的半胱氨酸，其中 N－端有 2 个半胱氨酸，C－端有 4 个半胱氨酸。9 种鱼的氨基酸序列系统分析结果（图 4a，b，c）表明，以生长/催乳素基因家族 3 个成员的氨基酸序列构建的系统树相似性较高，均为石斑鱼与金头鲷、金鲈和牙鲆聚成一类；虹鳟与大马哈鱼聚成一类；鲫鱼与鲶鱼聚成一类；鳗鲡成另外一类。

2.4　石斑鱼生长激素/催乳素基因家族 3 个成员的序列比较

石斑鱼生长激素/催乳素基因家族的 3 个成员的氨基酸序列的比较表明，石斑鱼的GH、PRL和SL

维普资讯 http://www.cqvip.com


```
1                          GGGAAACAGCAACAAGCAGGTCACAGAAGAAGAAGAGAG
40    ATGGCTCAAAGACACAGCGATGGAAACAAACTCCTCATGACGGTGTTGTACATGGTGGCA
       M  A  Q  R  H  S  D  G  N  K  L  L  M  T  V  L  Y  M  V  A
100   GCGTGCAGCGCCGTCCCCATCAACGACCTGCTCGACCGGGCCTCTCAGCGCTCCGACACA
       A  C  S  A  V  P  I  N  D  L  L  D  R  A  S  Q  R  S  D  T
160   CTGCACTCCCTCAGCACGACTCTCAGCCACGACCTGGACTTTAATTTCCCTCCTATAGGC
       A  C  S  A  V  P  I  N  D  L  L  D  R  A  S  Q  R  S  D  T
220   CGGATGGCTATGCCCCGCCCCTCAATGTGCCACACCTCCTCTCTGCAGACACCCAGTGAC
       R  M  A  M  P  R  P  S  M  C  H  T  S  S  L  Q  T  P  S  D
280   AAGGAACAAGCTCTACAAGTATCAGAGTCCGACCTGCTGTCATTGGCTCGCTCTCTGCTT
       K  E  Q  A  L  Q  V  S  E  S  D  L  L  S  L  A  R  S  L  L
340   CAGGCCTGGGCCGACCCCCTGGTCGTCCTGTCCACCTCTGCTAACACCCTGCCTCACCCA
       Q  A  W  A  D  P  L  V  V  L  S  T  S  A  N  T  L  P  H  P
400   GCCCAGAGCACCATCTCCAACAAGATCCAGGAGCTGCAGGAGCACACCAAGAGCCTGGGA
       A  Q  S  T  I  S  N  K  I  Q  E  L  Q  E  H  T  K  S  L  G
460   GACGGCCTGGATATCCTGTCTGGAAAGATGGGTCCAGCGGCTCAGCTCATCTCCTCACTG
       D  G  L  D  I  L  S  G  K  M  G  P  A  A  Q  L  I  S  S  L
520   CCCTACAGAGGAGGCAGCGACATTGGCCAGGACAGGATCTCCAAATTGGTCAACTTCAAC
       P  Y  R  G  G  S  D  I  G  Q  D  R  I  S  K  L  V  N  F  N
580   TTCCTGTTGTCCTGCTTCCGCCGCGACTCGCACAAGATCGACAGCTTCCTGAAAGTCCTA
       F  L  L  S  C  F  R  R  D  S  H  K  I  D  S  F  L  K  V  L
640   CGCTGCCGGGCAGCAAAACTGAGACCGGAGATGTGCTAAAGAGTGACGCAGCTAGCTTGG
       R  C  R  A  A  K  L  R  P  E  M  C
700   TTTTTCTCACAGCTTGTATTGTCTATCAACTGTAGATTAGCACGTTAGCAATCTGCGATC
760   TGAGCTGATATTCTAATTACTGAGTAGCTGGCATTATGAGCCTTCAGGAGGTGAAGATGA
820   GGAGGAGTTACATGACACACACGAGATAATGAAGTGACACCCGTTGGTCATCATGGTGCA
880   CAACACAATCCTCAGTGTGAATCTATTGATGCAAAAATATAATTAAATTTTAGCTCTTGT
940   TGATTTTGAAACAGTTGCCTCGTAAATTTGCAAACGGGGGCAAAAAAAACAGCTTCCTCA
1000  AAGGTCAAAGGTTAAAACACAACTGTTATCTAGTCTGGCTAATGTGGACAAAACAGCTCA
1060  CACACTTCCCCAGATGTTTCCAGCTGGTCTGGCGTTATGATCTGACCATACGTGGTCACA
1120  AACTGGTGTGTCATCGCTCCTGTGACTCCTTCTCGTCTTCTTCTACTAAAGCTTTCTGTA
1180  CTCGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGGTGTGCTCTATGAAACTCTTCAGTCTTCACACTTA
1240  CAGACGCTTACAGTGAAGTATAACTCTCTCTCCCTAACTGACGCTTGACTGACGACACAC
1300  TGCAGCATTTGCACTTTAAACTTTCTAGAAAGAACTTTGAATGTGATTCTTATCAATCTA
1360  AATATTTCTGCATCTCAATAAAAATAATCTCTTGCACAGCGGAAAAAAAAAAAAAAAAAA
1420  AAAAAAAAAA
```

图 3 斜带石斑鱼催乳素基因的 cDNA 序列及其推导的开放阅读框的 212 个氨基酸序列

Fig.3 Nucleotide sequence of grouper (*Epinephelus coioides*) PRL and the predicted open reading frame contains 212 amino acids as shown under the nucleotide sequence

的氨基酸同源性在 24% ~ 31%。SL 的保守性高于 GH 和 PRL。GH 与 SL 的遗传距离较小（0.692），而与 PRL 的遗传距离较大（0.759），PRL 与 SL 的遗传距离为 0.744。这 3 个基因 C－端的氨基酸同源性非常高，尤其是 C－端的 3 个 Cys 是严格保守的。

3 讨 论

GH、PRL 和 SL 都是由垂体分泌的结构相关的激素。GH 和 PRL 在脊椎动物中广泛存在（Kawauchi & Yasuda，1988），但 SL 仅在硬骨鱼类中被鉴定出来（May et al，1999）。GH、PRL 和 SL 在结构上的一致性表明这些蛋白可能起源于一个共同的祖先（Ono et al，1990；Rand-Weaver et al，1991，1993；Chen et al，1994）。SL 的氨基酸大小范围较窄，为 204 ~ 208 个（Noso et al，1988）；GH 为 175 ~ 191 个（Rand-Weaver et al，1992）；而 PRL 的大小范围最大，为 210 ~ 235。因而 SL 比 GH 和 PRL 有较高的保守性（Takayama，1991）。我们的分析也同样表明了这一点。

鳗鲡 SL 与 GH 的基因序列的同源性（26%）高于与 PRL 的同源性（20%）；大麻哈鱼 SL 与 GH 的同源性（25%）也高于与 PRL 的同源性（19%），据此，May et al（1997）推测 SL 可能起源于 GH，而非 PRL。而金鱼的 GH、PRL 和 SL 的成熟肽的氨基酸序列的同源性为 22% ~ 23%，Cheng et al(1997)由此认为这3种激素是相互独立进化的。但肺鱼的SL与GH的同源性(27.7%)高于

维普资讯 http://www.cqvip.com

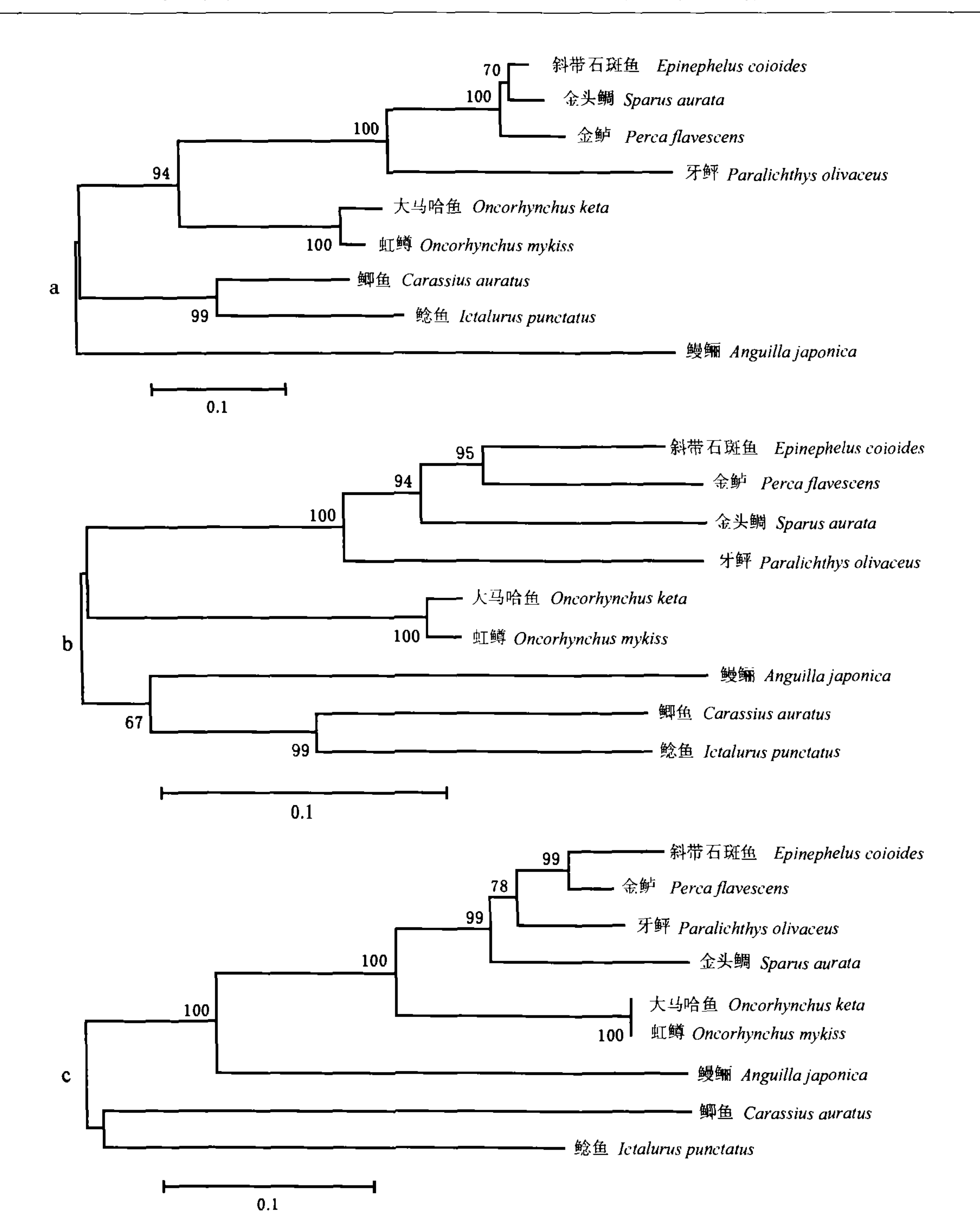


图 4　根据斜带石斑鱼与 8 种鱼的生长激素（a）、催乳素（b）和生长催乳素（c）的氨基酸序列，利用 Mega 2 和 CLUSTAL W1.64 b 软件构建的系统树

Fig.4　Phylogenetic trees of *Epinephelus coioides* and other eight kinds of fish using NJ method inferred from GHs (a), PRL (b) and SL (c), implemented in Mega 2 and CLUSTAL W1.64 b

与 PRL 的同源性（26%）(May et al, 1999)。在本研究中，石斑鱼的 SL 与 GH 的同源性最高(30.8%)，而与 PRL 的同源性为 25.6%，GH 和 PRL 的同源性最低，仅为 24.1%。与 May et al (1997) 的结果类似。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参考文献:

Agellon LB, Chen TT. 1986. Rainbow trout growth hormone: Molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli* [J]. *DNA*, **5** (6): 463-471.

Almuly R, Cavari B, Ferstman H, Kolodny O, Funkenstein B. 2000. Genomic structure and sequence of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth hormone-encoding gene: Identification of minisatellite polymorphism in intron Ⅰ [J]. *Genome*, **43** (5): 836-845.

Astola A, Pendon C, Ortiz M, Valdivia MM. 1996. Cloning and expression of somatolactin, a pituitary hormone related to growth hormone and prolactin from gilthead seabream, *Sparus aurata* [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **104** (3): 330-336.

Boonyaratpalin M. 1997. Nutritional requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia [J]. *Aquaculture*, **151**: 283-313.

Brockley F, Alexandre D, Chuchana P, Huck S, Lefranc G, Lefranc MP. 1989. First nucleotide sequence of a human immunoglobulin variable gene belonging to subgroup Ⅱ [J]. *Nucleic Acids Res.*, **17**: 3977.

Chen HT, Chiou CS, Chang WC. 1991. Cloning and characterization of the carp prolactin gene [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, **1088** (2): 315-318.

Chen TT, Marsh A, Shamblott M, Chan KM, Tang YL, Cheng CM, Yang BY. 1994. Structure and evolution of fish growth hormone and insulin-like growth factor genes [A]. In: Sherwood M, Hew CL. Fish Physiology, Molecular Endocrinology of Fish. Vol. 13 [M]. San Diego: Academic Press. 179-209.

Cheng KW, Chan YH, Chen YD, Yu KL, Chan KM. 1997. Sequence of a cDNA clone encoding a novel somatolactin in goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **232**: 282-287.

Chiou CS, Chen HT, Chang WC. 1990. The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from the common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, **1087** (1): 91-94.

Kawauchi H, Yasuda A. 1988. The molecular evolution of prolactin and related hormones [A]. In: Hoshino K. Prolactin Gene Family and Its Receptor [M]. Kyoto: Elsevier. 61-70.

Kuwana Y, Kuga T, Sekine S, Sato M, Kawauchi H, Itoh S. 1988. Cloning and expression of cDNA for salmon prolactin in *Escherichia coli* [J]. *Agric. Biol. Chem.*, **52**: 1033-1039.

Jia HB, Zhou L, Wang Y, Li CJ, Gui JF. 2004. cDNA Cloning, expression and localization of somatolactin by immunofluorescence histochemistry method in grouper *Epinephelus coioides* [J]. *High tech. Communication*. In press. [贾海波, 周 莉, 汪 洋, 李创举, 桂建芳. 2004. 斜带石斑鱼生长催乳素基因全长 cDNA 的克隆、表达及其免疫荧光组化分析. 高技术通讯, 印刷中.]

May D, Todd CM, Rand-Weaver M. 1997. cDNA cloning of eel (*Anguilla anguilla*) somatolactin [J]. *Gene*, **188**: 63-67.

May D, Alrubaian J, Patel S, Dores RM, Rand-Weaver M. 1999. Studies on the GH/SL gene family: Cloning of African lungfish (*Protopterus annectens*) growth hormone and somatolactin and toad (*Bufo marinus*) growth hormone [J]. *General and Comparative Endocrinology*, **113**: 121-135.

Mercier L, Rentier-Delrue F, Swennen D, Lion M, LeGoff P, Prunet P, Martial JA. 1989. Rainbow trout prolactin cDNA cloning in *Escherichia coli* [J]. *DNA*., **8** (2): 119-125.

Noso T, Yasuda A, Kawazoe I, Takahashi A, Sakai K, Kawauchi H. 1988. Isolation and characterization of growth hormone from a marine fish, bonito *Katsuwonus pelamis* [J]. *Int. J. Pept. Protein Res.*, **32**: 579-589.

Ono M, Takayama Y, Rand-Weaver M, Sakata S, Yasunaga T, Noso Y, Kawauchi H. 1990. cDNA cloning of somatolactin, a pituitary protein related to growth hormone and prolactin [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**: 4330-4334.

Rand-Weaver M, Noso T, Muramoto K, Kawauchi H. 1991. Isolation and characterization of somatolactin, a new protein related to growth hormone and prolactin from Atlantic cod (*Gadus morhua*) pituitary glands [J]. *Biochemistry*, **30**: 1509-1515.

Rand-Weaver M, Swanson P, Kawauchi H, Dickhoff WW. 1992. Somatolactin, a novel pituitary protein: Purification and plasma levels during reproductive maturation of coho salmon [J]. *J. Endocrinol.*, **133**: 393-403.

Rand-Weaver M, Swanson P. 1993. Plasma somatolactin levels in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during smoltification and sexual maturation [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, **11**: 1-6.

Saito A, Sekine S, Komatsu Y, Sato M, Sato M, Hirano T, Itoh S. 1988. Molecular cloning of eel growth hormone cDNA and its expression in *Escherichia coli* [J]. *Gene*, **73** (2): 545-551.

Sekine S, Mizukami T, Nishi T, Kuwana Y, Saito A, Sato M, Itoh S, Kawauchi H. 1985. Cloning and expression of cDNA for salmon growth hormone in *Escherichia coli* [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 4306-4310.

Takayama Y, Ono M, Rand-Weaver M, Kawauchi H. 1991. Greater conservation of somatolactin, a presumed pituitary hormone of the growth hormone: Prolactin family, than of growth hormone in teleost fish [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 366-374.

Tang Y, Lin CM, Chen TT, Kawauchi H, Dunham RA, Powers DA. 1993. Structure of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) growth hormone gene and its evolutionary implications [J]. *Mol. Marine Biol. Biotechnol.*, **2** (4): 198-206.

Xie J, Wen JJ, Chen B, Gui JF. 2001. Differential gene expression in fully-grown oocytes between gynogenetic and gonochoristic crucian carps [J]. *Gene*, **271**: 109-116.

Yao B, Zhou L, Gui JF. 2003. Studies on cDNA cloning and temporal and spatial expression of *sox*3 gene in grouper *Epinephelus coioides* [J]. *High tech. Communication*, **13** (5): 74-81. [姚 波, 周 莉, 桂建芳. 2003. 斜带石斑鱼 *sox*3 基因 cDNA 的克隆及其时空表达特征分析. 高技术通讯, **13** (5): 74-81.]